Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 3, Fall 2023, p. 615-627

Effect of Different Levels of Humic Acid and Zinc Sulfate on Morphological and Phytochemical Traits of (*Salvia officinalis* L.)

F. Khosravi[1]. M.A. Bahmanyar[2], V. Akbarpour[3]*

Received: 27-12-2021 Revised: 12-06-2022 Accepted: 12-07-2022 Available Online: 12-07-2022	**How to cite this article:** Khosravi, F., Bahmanyar, M.A., & Akbarpour, V. (2023). Effect of different levels of humic acid and zinc sulfate on morphological and phytochemical traits of (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Horticultural Science*, *37*(3), 615-627. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2022.74403.1120

Introduction

Humic acid as an organic matter, made during chemical processes in the soil leads to improved root growth and aerial part of the plant. It increases the penetration of elements in the plant and improves water permeability. Zinc is involved in the maintenance of root cell membranes, the activation of antioxidant enzymes, and the production of RNA and DNA. This study aimed to investigate the effect of applying humic acid and zinc sulfate on some morphological and phytochemical traits of *Salvia officinalis* L.

Materials and Methods

In this regard, this experiment was conducted as a factorial based in a completely randomized design with two factors (concentrations of 0, 1.5, 3 and 4.5 g/l humic acids and concentrations of 0, 3, 6 and 9 g/l zinc sulfate) in five replications in 2021. The studied traits included plant height, stem diameter, fresh weight, and dry weight, number of sub-branches, chlorophyll, carotenoids, phenols, flavonoids and essential oils. Seedlings of the same size and age as sage were grown under equal. The properties of the soil used in the laboratory were examined. Treatments were sprayed with humic acid 6% and zinc sulfate 34% in five steps, every two weeks.

Results and Discussion

Result showed that application of humic acid and zinc sulfate had no significant effect on plant height and only their simultaneous use had a significant effect on this trait and the highest plant height was observed for treatment of 1.5 g/l humic acid and 9 g/l zinc sulfate (66.50 cm). In stem diameter analysis, the use of humic acid ($p\leq0.01$) and the application of zinc sulfate ($p\leq0.05$) and the interaction of these two treatments($p\leq0.05$) affected the stem diameter. According to the results, the highest stem diameter was 8.69 mm, which occurred in the treatment of 4.5 g/l humic acid and 3 g/l zinc sulfate. Application of humic acid significantly ($p \leq 0.01$) affected the fresh weight of the plant. Application of zinc sulfate also had a significant effect ($p \leq 0.05$) on fresh weight. The effect of simultaneous use of humic acid and zinc sulfate on the fresh weight of this plant was significant at the level of 1% probability and the highest fresh weight was 87.26 $g.plant^{-1}$, which achieved at a concentration of 4.5 g/l humic acid and 6 g/l zinc sulfate. Compared to the control plant, it has increased by 12.56 grams. The effect of humic acid on dry weight was significant at the level of 5% probability, while the effect of zinc sulfate application on this trait was not significant. The combined use of humic acid and zinc sulfate was significant at the 1% probability level. The maximum dry weight reached 29.73 grams per plant, achieved with a concentration

1- M.Sc. Student of Medicinal Plants, Sana Institute of Higher Education
2- Professor, Department of Soil Sciences, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences and Engineering, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari
(*- Corresponding Author Email: v.akbarpour@sanru.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jhs.2022.74403.1120

of 4.5 grams per liter of humic acids and 3 grams per liter of zinc sulfate. Both humic acid and zinc sulfate exhibited a significant effect (at the one percent level) on the number of branches. Furthermore, the combined application of humic acid and zinc sulfate proved to be highly effective ($p<0.01$). The greatest number of sub-branches was observed at the 1.5 grams per liter level of humic acid. Humic acid had a substantial impact on chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids ($p\leq 0.01$). Similarly, the application of zinc sulfate showed significant effects on chlorophyll a, b, and carotenoids ($p\leq 0.01$), as well as on total chlorophyll ($p\leq 0.05$). In the end, the simultaneous application of humic acid and zinc sulfate significantly influenced chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids ($p<0.01$). The most significant effects on photosynthetic pigments (carotenoids, chlorophyll a, and total chlorophyll) were observed with concentrations of 4.5 grams/liter of humic acid and 6 grams/liter of zinc sulfate. The highest chlorophyll b content was obtained with the treatment of 3 grams/liter of humic acid and 6 grams/liter of zinc sulfate. The effect of humic acid and zinc sulfate application as well as their simultaneous use on the amount of phenols and flavonoids was significant at the level of 1% probability. The highest amount of phenol was 0.372 (mg gallic acid per gram of fresh tissue) which was obtained at a concentration of zero zinc sulfate and 3 g/l humic acid. The highest flavonoid content was 0.527 (mg quercin per gram of fresh tissue) which was observed in the treatment of 4.5 g/l humic acids. The use of humic acid had significant effect on the amount of essential oil. The percentage of essential oil reached the highest levels at the concentrations of 1.5 and 3 g/l humic acids.

Conclusion

Based on the results, the use of humic acid alone and in combination with zinc sulfate, had the greatest effect on most of the studied traits.

Keywords: Carotenoids, Flavonoids, Essential oils, chlorophyll, *Salvia officinalis*

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۳، پاییز ۱٤٠۲، ص. ٦۲۷-٦۱٥

تأثیر سطوح مختلف اسیدهیومیک و سولفات روی بر صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

فاطمه خسروی[۱]- محمدعلی بهمنیار[۲]- وحید اکبرپور[۳*]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۳/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۱

چکیده

اسیدهیومیک، مادهای آلی است که طی فرآیندهای شیمیایی در خاک ساخته شده و منجر به بهبود رشد ریشه و قسمت هوایی گیاه، افزایش نفوذ عناصر در گیاه و بهبود نفوذپذیری آب می‌شود. عنصر روی در حفظ غشای سلول ریشه، فعال کردن آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، در ساخت RNA و DNA تأثیر بسزایی دارد. در این تحقیق اثر اسید هیومیک و سولفات روی بر بعضی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه مریم گلی مورد مطالعه قرار گرفته است.کاربرد توام این دو ماده با احتمال اینکه کارایی جذب افزایش یابد، صورت گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور (فاکتور اول شامل غلظت‌های صفر، ۱/۵، ۳ و ۴/۵ گرم در هزار اسید هیومیک و فاکتور دوم شامل غلظت‌های صفر، ۳، ۶ و ۹ گرم در هزار سولفات روی)، با پنج تکرار در سال زراعی ۱۴۰۰ به صورت گلدانی و در هوای آزاد انجام شد. نتایج نشان داد که در اثر استفاده از اسیدهیومیک و سو لفات روی، صفات مورفولوژیکی (ارتفاع بوته، تعداد شاخه فرعی، وزن تر و خشک اندام هوایی و قطر ساقه) بهبود یافته و بیشترین تاثیر در غلظت‌های ۱/۵ و ۴/۵ گرم در هزار اسید هیومیک و ۳ و ۶ گرم در هزار سولفات روی مشاهده شد. صفات فیتوشیمیایی نیز تحت تأثیر مثبت اسید هیومیک و سولفات روی قرار گرفتند به گونه‌ای که بیشترین اثر در رنگدانه‌های فتوسنتزی (کارتنوئید، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) ناشی از کاربرد غلظت‌های ۴/۵ گرم در هزار اسید هیومیک و ۶ گرم در هزار سولفات روی بوده است. در تیمار بدون کاربرد سولفات روی، افزایش غلظت اسید هیومیک تا ۳ گرم در هزار منجر شده تا بیشترین میزان آن (۰/۳۷۲ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم بافت تازه) مشاهده شود و بیشترین میزان فلاونوئید (۰/۵۲۷ میلی‌گرم کوئرسین بر گرم بافت تازه) در تیمار ۴/۵ گرم در هزار اسید هیومیک و غلظت صفر سولفات روی به دست آمد. ضمناً غلظت‌های ۱/۵ و ۳ گرم در هزار اسید هیومیک باعث افزایش میزان اسانس از ۱/۱۵ درصد (گیاه شاهد) به ۱/۴۰ درصد شد. با توجه به نتایج حاصل شده، کاربرد اسید هیومیک به تنهایی و همراه با سولفات روی، بیشترین تاثیر را در اکثر صفات مورد بررسی داشته است.

واژه‌های کلیدی: اسانس، کلروفیل، فلاونوئید، کارتنوئید، مریم گلی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، مؤسسه غیرانتفاعی سنا، ساری
۲- استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*- نویسنده مسئول: Email: v.akbarpour@sanru.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2022.74403.1120

مقدمه

تولید و پرورش گیاهان دارویی امروزه طرفداران بیشتری را به خود اختصاص داده و به جهت افزایش استفاده از آن به شکل‌های خام و فرآوری شده، از لحاظ اقتصادی نیز اهمیت یافته است (Tripathi and Tripathi, 2003). مریم گلی گیاهی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد که به جز مناطق قطب شمال و جنوب در سراسر دنیا پراکنش یافته است. مریم گلی به عنوان گیاهی از این خانواده تقریبا در هر نوع خاکی به خوبی رشد کرده و هوای گرم و خشک برای آن مناسب می‌باشد (Omidbaigi, 2005). اسانس مریم گلی از مواد اصلی چون بتا- توجون، آلفا- توجون، اندکی کامفور، ۱و ۸- سینئول و اسید رزمارینیک و مقدار جزئی رزمانول، فلاونوئیدهای مختلف، دی‌ترپنوئیدها و تری‌ترپن‌ها تشکیل شده است (Wake and Eric, 2009). این گیاه مقوی معده، ضدعفونی کننده (Azadbakht and Azadbakht, 2013)، برگ تازه آن اشتهاآور و ریشه آن آرام‌بخش و خنک کننده می‌باشد (Mostafavi, 2009). اسید هیومیک در اثر فساد مواد آلی درون خاک، لیگنین و ذغال‌سنگ بوجود آمده و شامل مواد زیادی همچون ۵۸-۴۴ درصد کربن، ۴۶-۴۲ درصد اکسیژن، ۸-۶ درصد هیدروژن و ۴-۰/۵ درصد نیتروژن برای افزایش رشد گیاه می‌باشد (Tadayyon and Beheshti, 2016). این ماده آلی باعث افزایش جذب عناصر کم مصرف و پر مصرف در گیاه، بهبود رشد اندام هوایی و سهولت توسعه ریشه، افزایش نفوذپذیری آب می‌شود (Ghorbani *et al*., 2013). امروزه اهمیت عناصر ریزمغذی با ترویج علم تغذیه گیاهان و تشخیص علائم فقر عناصر ریزمغذی بیشتر شده است (Mazaheri and Hoseini, 2002). عنصر روی نقش مهمی در فعالیت آنزیم‌ها و سوخت و ساز قند دارد (Rath *et al*., 1980). روش محلول‌پاشی از جمله روش‌های اقتصادی می‌باشد که در آن عناصر به طور مستقیم وارد اندام هوایی گیاه می‌شود. مطالعات جدید نیز بیانگر آن است عملکرد گیاهان با استفاده از عناصر غذایی به خصوص آهن، منگنز و روی با روش محلول‌پاشی بهبود می‌یابد (Sarkar *et al*., 2007).

طی بررسی فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) با کاربرد سه سطح ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک، بیشترین میزان وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه را در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده گردید (Hasibi, 2020). همچنین در بررسی دیگر بر روی گیاه سرخارگل (*Echinaceae purpurea* (L.) Monch) غلظت ۴۵۰ میلی‌گرم در لیتر از اسید هیومیک نسبت به غلظت‌های ۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تأثیر را بر ارتفاع بوته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، وزن خشک و تازه ریشه و بوته داشته است (Khorasaninejad *et al*., 2019). میرانصاری (Miransari *et al*., 2015) با مطالعه بر روی گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) نشان دادند، محلول‌پاشی سولفات روی بر وزن خشک اندام هوایی، تعداد ساقه فرعی و درصد اسانس تأثیر معنی‌داری گذاشته است. نریمانی و سید شریفی (Narimani and Sharifi, 2020) نیز استفاده همزمان سولفات روی و نانواکسید روی در شرایط غیر شور در مقایسه با عدم کاربرد آن‌ها در شرایط شور، افزایش کلروفیل کل،کاروتنوئید و کلروفیل a و b در گیاه گندم اندازه‌گیری نمودند. در تحقیق رستمی و همکاران (Rostmi *et al*., 2019) اثر معنی‌دار اسید هیومیک بر کلروفیل a، b و کل در گیاه نعناع گزارش شد. ترکیبات آلی مانند اسیدهیومیک، مواد غذایی مورد نیاز موجودات ذره‌بینی خاک را تأمین‌نموده و موجب افزایش تعداد آنها و کاهش pH خاک می‌گردد، درنتیجه بر میزان جذب عناصر میکرو (از جمله Mn، Fe و Mg) دخیل در سنتز کلروفیل نقش مهمی داشته و بر مقدار آن می‌افزایند که سرانجام سبب می‌شوند میزان کلروفیل افزایش یابد (Sanchooli, 2007). هدف از این آزمایش بررسی تأثیر محلول‌پاشی غلظت‌های متفاوت اسید هیومیک و سولفات روی و همچنین اثر کاربرد همزمان آن‌ها (با احتمال بهبود کارایی جذب) بر بعضی صفات مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی مریم گلی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

با هدف بررسی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) ضمن محلول‌پاشی اسید هیومیک ۶۰ درصد و سولفات روی ۳۴ درصد، آزمایشی به صورت طرح فاکتوریل (دو فاکتور) و کاملاً تصادفی با پنج تکرار، به صورت گلدانی (گلدان‌هایی به ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر، قطر دهانه ۳۳ سانتی‌متر و وزن آن به همراه خاک ده کیلوگرم) در شهرستان قائم‌شهر در فصل بهار سال ۱۴۰۰ انجام شد. دو فاکتور مورد بررسی شامل چهار سطح صفر، ۱/۵، ۳، ۴/۵ گرم در هزار از اسید هیومیک و چهار سطح صفر، ۳، ۶ و ۹ گرم در هزار از سولفات روی بود. فرضیات این آزمایش مبنی بر اثرگذاری محلول‌پاشی بعضی از سطوح اسید هیومیک و سولفات روی بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی مریم گلی می‌باشد. پس از تهیه گیاهچه‌های هم‌اندازه و یک ساله مریم گلی، گلدان‌هایی که درون آن‌ها بستر کشتی متشکل از خاک مزرعه، خاکبرگ و کود دامی بود (به نسبت ۱:۱:۲) آماده شد، درون هر گلدان یک عدد گیاهچه کشت شد و در نهایت همه‌ی این گلدان‌ها در هوای آزاد (محیط طبیعی) در شرایطی یکسان قرار داده شدند و هفته‌ای یک بار آبیاری صورت می‌گرفت. کشت گیاه از اول ماه فروردین انجام شد و انتهای ماه تیر (در مرحله زایشی) برداشت گیاه انجام شد. برخی

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در (جدول ۱) ارائه شده است. تیمارها پس از استقرار یافتن گیاهان و تا قبل از شروع مرحله گلدهی با روش محلول‌پاشی (۸۰ میلی‌لیتر برای هر گیاه) هر دو هفته یک بار و طی ۵ مرحله انجام شد. بعد از تکمیل مرحله رویشی گیاه، جهت بررسی صفات مورفولوژیکی ارتفاع گیاه توسط متر، قطر ساقه به کمک کولیس و تعداد شاخه فرعی شمارش گردید و بعد از کفبر کردن گیاهان و منتقل کردن آن‌ها به آزمایشگاه، وزن تر و خشک بوته توسط ترازو اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل و کارتنوئید از روش آرنون (Arnon, 1949)، میزان فلاونوئید کل به کمک روش چانگ و همکاران (Chang *et al.*, 2002)، میزان فنل کل توسط روش اسلینکار و سینگلتون (Slinkard and Singleton, 1977) و اندازه‌گیری اسانس (از برگ خشک شده) با دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین تیمارها به کمک روش LSD انجام پذیرفت. نمودارها و جداول به کمک نرم‌افزار EXCEL رسم شدند.

جدول ۱- نتایج برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک بستر کاشت

Table 1- Results of some physical and chemical properties of planting soil

بافت خاک Soil Texture	کربن آلی O.C	ماده آلی O.M	اسیدیته کل اشباع pH	هدایت الکتریکی EC	مواد خنثی شونده T.N.V	ازت کل Nitrogen	فسفر قابل جذب Phosphorus	پتاسیم قابل جذب Potassium	منیزیم magnesium	آهن iron	منگنز manganese	روی zinc	مس copper
	Percentage			dS/m	Percentage		mg.kg^{-1}						
Loam	2.22	3.83	7.04	1.31	10.5	0.22	46	318	584	22	19.9	2.97	1.09

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی

ارتفاع بوته

با توجه به جدول تجزیه واریانس، محلول‌پاشی اسید هیومیک و سولفات روی تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشته است ولی اثر متقابل آنها در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشانگر افزایش ارتفاع بوته گیاه (با افزایش غلظت اسید هیومیک و سولفات روی) در مقایسه با تیمار شاهد می‌باشد، به گونه‌ای که در تیمار ۱/۵ در هزار اسید هیومیک و ۹ در هزار سولفات روی بیشترین ارتفاع (۶۶/۵ سانتی‌متر) گزارش شد (جدول ۳). به طور کلی کاربرد همزمان این دو ماده (برخلاف کاربرد آن‌ها به تنهایی) بر ارتفاع بوته اثر معنی‌داری داشت. در همین راستا در تحقیقات دیگر نیز افزایش ارتفاع گیاه منداب (Albayrak and Camas, 2005)، گندم (Ulukan, 2008) و بادرنجبویه (Gorgini Shabankareh *et al.*, 2017) حین کاربرد اسید هیومیک نیز مشاهده شد. در مطالعه‌ای دیگر در گیاه گشنیز محلول‌پاشی عنصر روی منجر به افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته گردید (Said- Al Ahl and Omer, 2009).

قطر ساقه

کاربرد اسید هیومیک در سطح احتمال یک درصد وکاربرد سولفات روی در سطح پنج درصد معنی‌دار شده و اثر متقابل اسید هیومیک و سولفات روی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). طبق نتایج بدست آمده کاربرد توام این دو ماده بر قطر ساقه تاثیر گذاشته و بیشترین میزان قطر ساقه(۸/۶۹ میلی‌متر) مشاهده شد که در تیمار ۴/۵ در هزار اسید هیومیک و ۳ در هزار سولفات روی اتفاق افتاد (جدول ۳). مواد هیومیکی با اثرگذاری بر ترکیبات اکسینی سبب تسریع رشد گیاهان می‌شوند (Nardi *et al.*, 2002). گولسر و همکاران (Gulser *et al.*, 2010) نیز طی پژوهش خود بر روی گیاه فلفل به این نتیجه رسیدند که کاربرد همزمان اسید هیومیک و عناصر ریزمغذی همچون روی منجر به افزایش میزان وزن تر و خشک برگ و قطر ساقه شده است.

وزن تر

کاربرد اسید هیومیک به صورت معنی‌داری ($p \leq 0.01$) وزن تر بوته را تحت تأثیر قرار داد. کاربرد سولفات روی نیز اثر معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بر وزن تر داشته است. تأثیر کاربرد همزمان اسید هیومیک و سولفات روی بر وزن تر این گیاه در سطح یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۲). در تیمار بدون کاربرد سولفات روی، در غلظت ۴/۵ در هزار اسید هیوبک افزایش میزان وزن تر نسبت به گیاه شاهد مشاهده شد در صورتی که در تیمار بدون مصرف اسید هیومیک، کاربرد سولفات روی تا غلظت ۶ در هزار روند کاهشی داشته، اما در غلظت ۹ در هزار افزایش میزان وزن تر مشاهده شد. بالاترین میزان وزن تر، ۸۷/۲۶ گرم در بوته بود که درغلظت ۴/۵ در هزار اسید هیومیک و ۶ درهزار سولفات روی اتفاق افتاد (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات مورفولوژیکی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تاثیر سطوح مختلف اسید هیومیک و سولفات روی

Table 2- ANOVA (mean squares) for some morphological traits *of Salvia officinalis* L. under different levels of humic acid and zinc sulfate

منابع تغییرات Source of Variations	درجه آزادی (df)	ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه Stem diameter	وزن تر Fresh weight	وزن خشک Dry weight	تعداد شاخه No. of stem/Plant
اسید هیومیک Humic acid	3	21.88 ns	**32.54	**141.72	*18.97	**83.18
سولفات روی Zinc sulfate	3	3.7 ns	1.65*	*63.61	16.82ns	**112.68
Humic acid×Zinc sulfate	9	**104.96	*1.69	**231.35	**32.67	**42.70
خطا Error	32	19.53	0.56	20.89	6.60	8.43
ضریب تغییرات C.V (%)		7.95	13.52	6.01	10.26	9.83

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و عدم معنی‌دار

** and *: significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively and ns:non-significant..

از علل افزایش وزن تر با کاربرد اسید هیومیک و ریز مغذی‌ها، می‌تواند این باشد که اسید هیومیک دسترسی گیاه را به عناصر غذایی بیشتر می کند و در نهایت بهبود وضعیت اندام هوایی رخ می‌دهد (Jones *et al.*, 2007). گرگینی شبانکاره و همکاران (Gorgini Shabankareh *et al.*, 2017) نیزطی پژوهش خود بر روی بادرنجبویه، بیان کردند که محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف اسید هیومیک، منجر به افزایش وزن تر و خشک شده است. این یافته‌ها با نتایج پریتی پانده و همکاران (Pande *et al.*, 2007)، حیدری و همکاران (Heidari *et al.*, 2008) مطابقت دارد. در پژوهشی دیگر خلیلی محله و رشدی (Khalili Mahalleh and Roshdi, 2008)، با محلول‌پاشی عناصر ریز مغذی (آهن، روی و منگنز) در گیاه ذرت سیلویی ۷۰۴، افزایش وزن تر و ماده خشک را گزارش کردند.

وزن خشک

اثر کاربرد اسید هیومیک بر میزان وزن خشک در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد در صورتی که اثر کاربرد سولفات روی بر این صفت معنی‌دار نشد. کاربرد توأم اسید هیومیک و سولفات روی بر صفت نام برده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). با توجه به جدول مقایسه میانگین در تیمار شاهد از اسید هیومیک همراه با افزایش سطوح سولفات روی، میزان وزن خشک در بوته نیز روند افزایشی داشته و این روند در تیمار بدون مصرف سولفات روی نیز رؤیت شد و بعلاوه با افزایش غلظت اسید هیومیک، افزایش میزان وزن خشک اتفاق افتاد. در ادامه استفاده همزمان این دو ماده منجر به بالا رفتن میزان وزن خشک شد به طوری که بالاترین میزان وزن خشک ۲۹/۷۳ گرم در بوته بدست آمد که در غلظت ۴/۵ در هزار اسید هیومیک و ۳ در هزار سولفات روی حاصل شد (جدول ۳). آیاد و همکاران (Ayad *et al.*, 2010) طی پژوهش خود با محلول‌پاشی سطوح مختلف سولفات روی برگیاه شمعدانی (*Pelargonium graveolens* L.) شاهد بهبود وزن تر و خشک و ارتفاع بوته بودند. شریف و همکاران (Sharif *et al.*, 2002) نیز با کاربرد اسید هیومیک، بالا رفتن میزان وزن خشک را در گیاه ذرت گزارش کردند.

تعداد شاخه فرعی

با توجه به (جدول ۲)، اسید هیومیک و سولفات روی بر تعداد شاخه اثر معنی‌دار (در سطح احتمال یک درصد) داشته است. همچنین کاربرد توأم اسید هیومیک و سولفات روی نیز در سطح احتمال یک درصد اثر گذار بوده است (جدول ۲). مقایسه میانگین نشان داد تعداد شاخه فرعی تحت تأثیر غلظت‌های ۱/۵ و ۳ در هزار از اسید هیومیک و سطوح مختلف از سولفات روی به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بالاترین تعداد شاخه فرعی در سطح ۱/۵ در هزار از اسید هیومیک دیده شد که از ۲۰/۳۳ شاهد به ۳۷/۶۶ افزایش یافت (جدول ۳). محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی همچون روی منجر به بالا رفتن فعالیت هورمون‌ها، تثبیت نیتروژن و در نهایت افزایش تعداد شاخه شده است (Malakouti and Tehrani, 1999). در همین راستا افزایش تعداد شاخه فرعی در گیاه گلرنگ طی محول‌پاشی روی وآهن نیز گزارش گردیده است (Ravi and Channal, 2010). راجپار و همکاران (Rajpar *et al.*, 2011) با کاربرد اسید هیومیک در گیاه کلزا شاهد افزایش تعداد شاخه فرعی در بوته بودند.

جدول ۳- برخی صفات مورفولوژیکی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalic* L.) تحت تاثیر سطوح مختلف اسید هیومیک و سولفات روی

Table 3- Some morphological traits of *Salvia officinalis* L. under different levels of humic acid and zinc sulfate

اسید هیومیک Humic acid (g.L^{-1})	سولفات روی Zinc sulfate (g.L^{-1})	ارتفاع بوته Plant height (cm)	قطر ساقه Stem diameter (mm)	وزن تر بوته Fresh weight (g.plant^{-1})	وزن خشک بوته Dry weight (g.plant^{-1})	شاخه فرعی No. of stem.Plant^{-1}
0	0	50.66f	3.46fg	74.70def	22.66efg	20.33i
	3	51.66ef	4.77de	71.80ef	25.30b-f	23.33hi
	6	58.33b-e	2.76g	68.56gf	27.10a-d	32.00b-e
	9	54.00ef	4.76de	80.56a-d	28.73ab	32.66bc
1.5	0	f-54.66b	5.91cd	62.50g	20.20g	37.66a
	3	f-55.00b	5.79d	74.86def	22.06fg	36.66ab
	6	61.66ab	5.57d	72.53ef	23.53d-g	30.00c-f
	9	66.50a	4.02ef	76.83cde	23.86c-g	27.66d-h
3	0	61.00ab	5.23de	72.00ef	24.10c-g	32.33bcd
	3	53.00ef	4.89de	74.73def	24.26c-g	33.00abc
	6	f-55.33b	5.09de	87.06a	25.33b-f	31.33c-f
	9	52.33ef	5.06de	83.43abc	28.83ab	27.33e-h
4.5	0	49.33f	7.89ab	86.23ab	26.76a-e	24.33ghi
	3	50.00f	8.69a	79.30b-e	29.73a	28.33c-g
	6	f-55.66b	7.76ab	87.26a	28.03abc	28.33c-g
	9	59.66a-d	7.04bc	62.96g	20.10g	27.00fgh

حرف یا حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD است

The common letter or letters in each column indicate no significant difference based on LSD test at 5% of probability level.

صفات فیتوشیمیایی

کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید

نتایج ارائه شده در جدول ۴ نشان می‌دهد که اثر کاربرد اسید هیومیک بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید معنی‌دار ($p \leq 0.01$) شده است. همچنین کاربرد سولفات روی نیز بر کلروفیل a،b، کاروتنوئید ($p \leq 0.01$) و کلروفیل کل ($p \leq 0.05$) معنی‌دار شد. در نهایت کاربرد همزمان اسید هیومیک و سولفات روینیز بر کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید معنی‌دار (در سطح یک درصد) گردید (جدول ۴). جدول مقایسه میانگین نشان داد تا غلظت ۴/۵ در هزار از اسید هیومیک و ۶ درهزار از سولفات روی روند افزایشی کلروفیل a دیده شدکه بالاترین میزان آن ۱/۱۱۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، نیز در همین غلظت بدست آمد (جدول ۵). عنصر روی از عوامل اساسی در فعال شدن بعضی آنزیم‌های مسیر بیوسنتز کلروفیل و بعضی آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌باشد که در مسیر جلوگیری از تخریب کلروفیل به وسیله‌ی رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش مهمی دارد (Malakouti, 2000). گزارشی از افزایش کلروفیل a طی محلول‌پاشی سولفات روی در برگ گلرنگ نیز وجود دارد (Wang and Jin, 2005). همچنین افزایش مقدار کلروفیل توسط سالمن و همکاران (Salman *et al.*, 2005) در نتیجه استفاده از اسید هیومیک نیز ثبت شده و این افزایش کلروفیل را در مقایسه با شاهد، نتیجه تاثیر معنی‌دار مواد هیومیکی بر فرآیندهای بیولوژیکی همانند فتوسنتز و میزان کلروفیل می‌دانند. مقایسه میانگین کلروفیل b بیان کننده‌ی افزایش معنی‌دار آن هنگام کاربرد سطوح بالای اسید هیومیک در کنار سطوح مختلف سولفات روی می‌باشد (جدول ۵)، به گونه‌ای که بالاترین مقدار کلروفیل b بترتیب در تیمار ۳ و ۶ در هزار اسید هیومیک و سولفات روی به مقدار ۰/۳۴۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر حاصل گردید. از آنجایی که اسید هیومیک دارای عناصر ریزمغذی بوده می‌تواند در افزایش کلروفیل نقش داشته باشد، که این نتایج با مطالعه شاه ملکی و همکاران بر تأثیر اسید هیومیک بر گیاه گوجه فرنگی مطابقت داشته است (Kamari Shahmalaki *et al.*, 2012). عابدی بابا عربی و همکاران (Abedi baba arabi *et al.*, 2011) نیز گزارش کردند که محلول‌پاشی روی بر گیاه گلرنگ منجر به بالا رفتن این صفت شد. بررسی مقایسه میانگین نشان می‌دهد که در زمان استفاده از مقادیر مختلف سولفات روی، با افزایش میزان اسید هیومیک، افزایش کلروفیل کل نیز به چشم می‌خورد. در سطوح ۴/۵ و ۶ در هزار از اسید هیومیک و سولفات روی، بیشترین میزان کلروفیل کل با مقدار ۱/۳۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد (جدول ۵). نتایج مطالعه داوودی فرد و همکاران (کاربرد اسید هیومیک بر روی گیاه گندم) نیز بیان کننده تأثیر مثبت اسید هیومیک بر کلروفیل گیاه گندم می‌باشد (Davoudi fard *et al.*, 2012). جدول مقایسه میانگین کاروتنوئید نشان داد که با بالا رفتن میزان اسید هیومیک و سولفات روی تا غلظت ۴/۵ و ۶ در هزار، افزایش معنی‌دار کاروتنوئید در مقایسه با شاهد اتفاق افتاد (جدول ۵). بیشترین میزان کاروتنوئید در غلظت ۴/۵ در هزار اسید هیومیک و ۶ در هزار سولفات روی با مقدار ۰/۳۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بدست آمد. عناصر ریزمغذی همچون روی در سنتز کاروتنوئید، کلروفیل، تیلاکوئید، نمو کلروپلاست و رشد و نمو گیاهان نیز اثرگذار است (Curie and Briat, 2003).

جدول ٤- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات فیتوشیمیایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تاثیر سطوح مختلف اسید هیومیک و سولفات روی

Table 4- ANOVA (mean squares) for some phytochemical traits of *Salvia officinalis* L. under different levels of humic acid and zinc sulfate

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	کلروفیل کل T.Ch.	کلروفیل a Ch. a	کلروفیل b Ch. b	کاروتنوئید Carotenoids	فنول Phenol	فلاونوئید Flavonoids	اسانس Essencial oil
اسید هیومیک Humic acid	3	0.202**	0.104**	0.020**	0.014**	0.002**	0.006**	0.252**
سولفات روی Zinc sulfate	3	0.027*	0.061**	0.016**	0.011**	0.010**	0.015**	0.076 ns
Humic acid×Zinc sulfate	9	0.079**	0.070**	0.011**	0.016**	0.003**	0.006**	0.069 ns
خطا Error	32	0.008	0.006	0.009	0.008	0.0004	0.001	0.040
ضریب تغییرات C.V. (%)		6.18	11.18	13.46	13.17	7.63	8.36	16.02

**، * وns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد و عدم معنی‌داری

** and *: significant at p≤0.01 and p≤0.05, respectively and ns:non-significant.

جدول ۵- مقایسه میانگین برخی صفات فیتوشیمیایی گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تاثیر سطوح مختلف اسید هیومیک و سولفات روی

Table 5- Average Comparison some phytochemical traits of *Salvia officinalis* L. under different levels of humic acid and zinc sulfate

اسیدهیومیک Humic acid ($g.L^{-1}$)	سولفات روی Zinc sulfate ($g.L^{-1}$)	کلروفیل کل Chlorophyll T. ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل a Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$ FW)	کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$ FW)	کارتنوئید Carotenoids ($mg.g^{-1}$ FW)
0	0	0.640f	0.555def	0.137h	0.121def
	3	0.796c-f	0.624bcd	0.171gh	0.206c
	6	0.688ef	0.555cde	0.132h	0.107ef
	9	0.643f	0.411f	0.232ef	0.085f
1/5	0	0.827cde	0.496def	0.204fg	0.185c
	3	0.856cd	0.604b-e	0.252def	0.195c
	6	0.846cd	0.610bcd	0.125h	0.134de
	9	0.792c-f	0.522def	0.270cde	0.205c
3	0	0.746def	0.537def	0.209fg	0.270b
	3	0.821cde	0.583b-e	0.237ef	0.161cd
	6	0.815cde	0.690bc	0.349a	0.166cd
	9	0.919bc	0.622bcd	0.296bcd	0.166cd
4/5	0	0.919bc	0.709b	0.210fg	0.208c
	3	1.027b	0.701b	0.326abc	0.296b
	6	1.389a	1.114a	0.274cde	0.344a
	9	0.785c-f	0.472ef	0.312abc	0.111ef

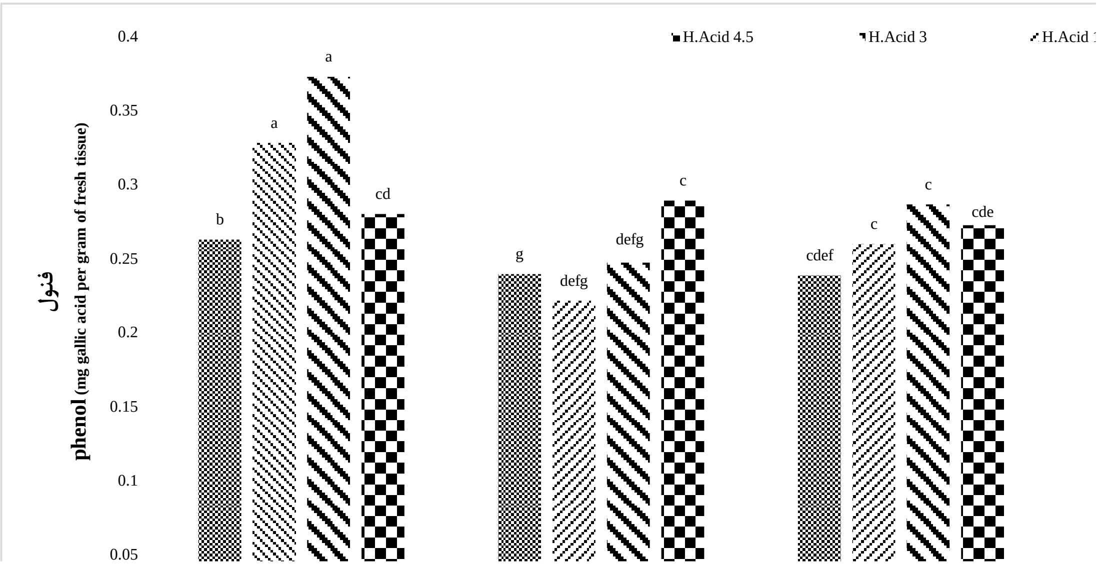
حرف یا حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD است

The same letter or letters of the columns indicate their insignificant difference based on LSD test at 5% of probability level.

فنول کل

با توجه به جدول ۴ اثر کاربرد اسید هیومیک، سولفات روی و همچنین استفاده همزمان آن‌ها بر میزان فنول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین بیان کننده افزایش میزان فنول در غلظت صفر سولفات روی و تا غلظت ۳ درهزار اسید هیومیک می‌باشد و بیشترین میزان فنول ۰/۳۷۲ (میلی گرم گالیک اسید بر گرم بافت تازه) نیز در همین تیمار دیده شده است (شکل ۱). همچنین در گیاهانی که از سولفات روی در کنار اسید

هیومیک جهت تیمار آن‌ها استفاده شد، افزایش میزان اسید هیومیک تا حدودی توانست نزول فنول را تعدیل کند. در تحقیقی گزارش شده است که کاربرد اسید هیومیک بر روی گیاه سرخارگل بر فنولکل آن اثر معنی‌داری داشته است (Alizadeh Ahmadabadi *et al.*, 2017). همچنین در گیاه گندم بر اثر کاربرد روی، افزایش فنول کل رؤیت شد (Vinod *et al.*, 2012)، که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. اسیدهای ارگانیک مانند اسید هیومیک به عنوان پیش‌سازه یا فعال کننده گیاهان دارویی و ترکیبات ثانویه در گیاه عمل می‌کند و در نهایت سبب افزایش محتوای فنول کل می‌شود (Viti *et al.*, 1989).



شکل ۱- اثر متقابل اسید هیومیک ×سولفات روی بر میزان فنول در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

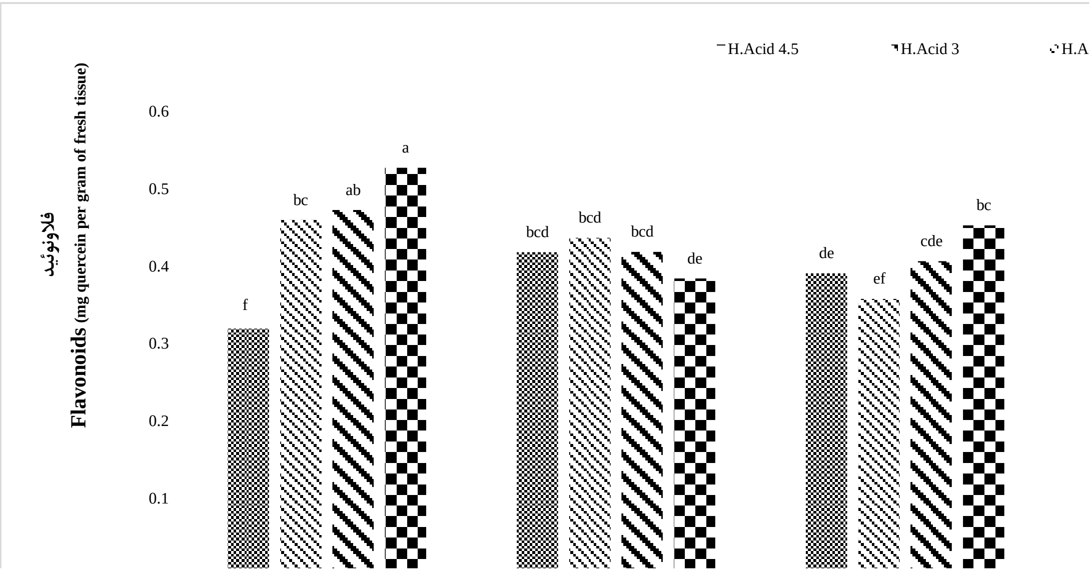
Figure 1- The interaction effect of humic acid ×zinc sulfate on phenol content in *Salvia officinalis* L.

فلاونوئید کل

تجزیه واریانس داده‌ها نشان دهنده تأثیر کاربرد اسید هیومیک و سولفات روی و همچنین استفاده همزمان آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر فلاونوئید مریم گلی است (جدول ۴). نتایج مربوط به میزان فلاونوئید کل نشان داد که در غلظت صفر سولفات روی و با افزایش اسید هیومیک مقدار فلاونوئید نیز بصورت خطی افزایش می‌یابد که بالاترین میزان آن ۰/۵۲۷میلی گرم کوئرسین بر گرم بافت تازه بوده و در تیمار ۴/۵ در هزار اسید هیومیک مشاهده گردید (شکل ۲). در همین راستا در پژوهشی با بررسی گیاه توت فرنگی و کاربرد کودهای آلی، افزایش فلاونوئید میوه را گزارش گردید (Hargreaves *et al.*, 2009). صالحی و همکاران (Salehi *et al.*, 2010) نیز علت افزایش میزان فلاونوئید را نهاده‌های اکولوژیک می‌دانندکه از طریق ساز و کارهایی نظیر انحلال ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنتی بیوتیک‌های طبیعی، سنتز آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز را فعال کرده. در این مطالعه استفاده از بعضی سطوح سولفات روی منجر به افزایش فلاونوئید شده است که علت این مکانیسم را می‌توان تأثیر روی بر فعالسازی آنزیم‌های CHS11 و CHI12 دانست که آنزیم‌های بسیار مؤثر در بیوسنتز ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشند (Song *et al.*, 2015).

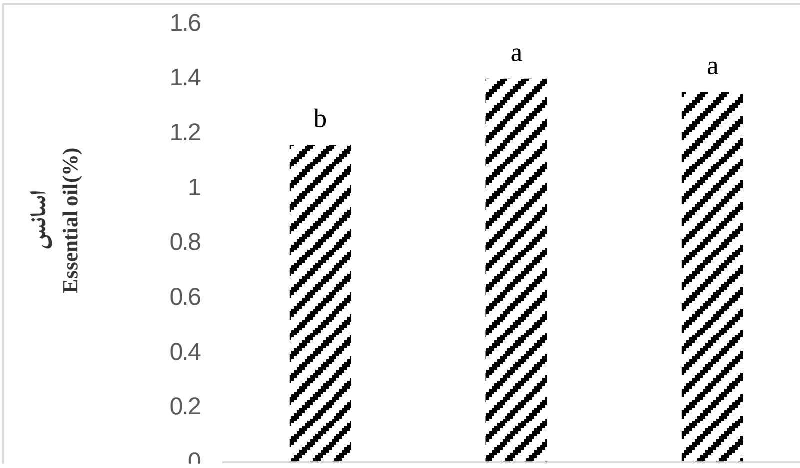
میزان اسانس

نتایج نشان داد تنها کاربرد اسید هیومیک بر میزان اسانس در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۴). درصد اسانس در غلظت‌های ۱/۵ و ۳ در هزار اسید هیومیک به بیشترین میزان رسید و با نزدیک شدن میزان اسید هیومیک به ۴/۵ در هزار، کاهش معنی‌دار اسانس دیده می‌شود (شکل ۳). در همین راستا و در پژوهشی گزارش گردید که عملکرد اسانس در گیاه بابونه آلمانی به طور معنی‌داری با افزایش میزان اسید هیومیک (تحت تنش کم آبیاری) افزایش یافت (Farhadi *et al.*, 2017). به نظر می‌آید تیمارهای کودی در مسیرهای بیوشیمیایی دخیل در تولید مواد مؤثره اثرگذار هستند. همانگونه که کاهش مواد غذایی کاهش عملکرد را به دنبال دارد، عدم توازن در استفاده از کودها نیز علتی برای کاهش میزان اسانس خواهد شد (Hassanpour aghdam *et al.*, 2008).



شکل ۲- اثر متقابل اسید هیومیک × سولفات روی بر میزان فلاونوئید در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

Figure 2- The interaction effect of humic acid ×zinc sulfate on flavonoid content in *Salvia officinalis* L.



شکل ۳- اثر کاربرد اسید هیومیک بر میزان اسانس در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.)

Figure 3- The effect of humic acid application on essential oil content in *Salvia officinalis* L.

نتیجه‌گیری

با مصرف اسید هیومیک و سولفات روی افزایش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک، تعداد شاخه فرعی و قطر ساقه مشاهده شد، به گونه‌ای که بیشترین تأثیر بر صفات ذکر شده از غلظت ۱/۵ و ۴/۵ در هزار اسید هیومیک و ۳ و ۶ در هزار سولفات روی بدست آمد.

صفات فیتوشیمیایی مورد بررسی نیز تحت تأثیر مثبت اسید هیومیک و سولفات روی قرار گرفتند. بیشترین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید) در تیمار اسید هیومیک ۴/۵ درهزار و سولفات روی ۶ درهزار بدست آمد. کاربرد اسید هیومیک ۳ درهزار منجر به حصول بالاترین میزان فنول شد و بیشترین فلاونوئید با کاربرد اسید هیومیک ۴/۵ در هزار رؤیت شد. در میزان اسانس کاربرد اسید هیومیک در سطوح ۱/۵ و ۳ در هزار منجر به افزایش این پارامتر شده ، اگرچه نزدیک شدن غلظت آن به ۴/۵ در هزار، کاهش معنی‌دار اسانس را در پی داشته است. بدین سبب به کار گرفتن اسید هیومیک و عناصری مانند روی در راستای اهداف کشاورزی پایدار می‌تواند سودمند واقع شود.

منابع

1. Abedi Baba Arabi, S., Movahedi Dehnavi, M., Yadavi, A., & Adhami, A. (2011). The effect of foliar application of zinc and potassium on physiological traits and yield of safflower under drought stress. *Electronic Journal of Crop Production, 4*, 75-95. https://dorl.net/dor/20.1001.1.2008739.1390.4.1.6.8
2. Albayrak, S., & Camas, N. (2005). Effects of different levels and application times of humic acid on root and leaf yield and yield components of forage turnip (*Brassica rapa* L.). *Journal of Agronomy*, *42*, 130-133. https://doi.org/10.3923/ja.2005.130.133
3. Alizadeh Ahmadabadi, A., Khorasani Nejad, S., & Hemati, K. (2017). The effect of low irrigation and humic acid on morphological characteristics and phytochemical irrigation and Echinacea (*Echinacea purpurea* L.) root. *Journal of Crops*, *19*(1), 1-14. https://doi.org/10.22059/jci.2017.60403
4. Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, *24*(1), 1. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1
5. Ayad, H.S., Reda, F., & Abdalla, M.S.A. (2010). Effect of putrescine and zinc on vegetative growth, photosynthetic pigments, lipid peroxidation and essential oil content of geranium (*Pelargonium graveolens* L.). *World Journal of Agricultural Sciences*, *6*(5), 601-608.
6. Azadbakht, M., & Azadbakht, M. (2013). *Medicinal botan*, Second Edition. Tehran, Arjomand Book. 296 p. (In Persian)
7. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182. https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748
8. Curie, C., & Briat, J.F. (2003). Iron transport and signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, *54*(1), 183-206. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.135018
9. Davoudi fard, M., Habibi, D., & Davoodi fard, F. (2012). Evaluation of the effect of salinity stress on cytoplasmic membrane stability, chlorophyll content and yield components in Wheat inoculated with growth-promoting bacteria and humic acid. *Journal of Agriculture and Plant Breeding, 2*(8), 71-86.
10. Farhadi, A., Daneshvar, M.A., Eisavand, H.R., & Nazariyan firouzabadi, F. (2017). Effect of humic acid on morphological characteristics, yield components *and Matricaria chamomilla* L. essential oil under low irrigation stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, *33*(6), 1060-1071. https://doi.org/10.22092/ijmapr.2018.110671.2036
11. Ghorbani, S., Khazaee, H.R., Kafi, M., Banayan, M., & Sadeghi, M. (2013). The effect of foliar application of different levels of humic acid on yield, yield components and growth indices of maize. *Journal of Agricultural Research*, *5*(4), 325-337. https://doi.org/10.22067/jag.v2i1.7608
12. Gorgini Shabankareh, H., Sabouri, F., Saedi, F., & Fakheri, B.A. (2017). Effects of different levels of humic acid on growth indices and essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) under different irrigation regimes. *Crop Science Research in Arid Regions*, *1*(2), 166-176. https://doi.org/10.22034/csrar.01.02.04
13. Gulser, F., Sonmez, F., & Boysan, S. (2010). Effects of calcium nitrate and humic acid on pepper seedling growth under saline condition. *Journal of Environmental Biology*, *31*(5), 873-876.
14. Hargreaves, J.C., Adl M.S., & Warman P.R. (2009). The effects of municipal solid waste compost and compost tea on mineral element uptake and fruit quality of strawberries. *Compost Science and Utilization, 17*(2), 85-94.
15. Hasibi, A. (2020). Evaluation of changes in some morphological and physiological characteristics of *Zataria multiflora* with the use of humic acid and fulvic acid. *Iranian Plant and Biotechnology Quarterly, 15*(2), 53-63. https://dorl.net/dor/20.1001.1.17355028.1399.15.2.5.3
16. Hassanpour aghdam, M.B., Tabatabaie, S.J., Nazemiyeh, H., & Aflatuni, A. (2008). N and nutrition levels affect growth and essential oil content of costmary (*Tanacetum balsamita* L.). *Food, Agriculture and Environment*, *6*(2), 150-154.
17. Heidari, F., Zehtab Salmasi, S., Javanshir , A., Aliari, H., & Dadpoor, M.R.(2008). Effects of microelements and plant density on Biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Plant Science Research*, *1*(1), 24-26.
18. Jones, C.A., Jacobsen, J.S., & Mugaas, A. (2007). Effect of low-rate commercial humic acid on phosphorus availability, micronutrient uptake, and spring wheat yield. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *38*(7-8), 921-933. https://doi.org/10.1080/00103620701277817
19. Kamari Shahmalaki, S., Peyvast, GH., & Ghasemnezhad, M. (2012). The effect of humic acid on vegetative traits and yield of Isabella cultivar tomatoes. *Journal of Horticultural Sciences (Food Science and Technology), 4*(26), 358-363. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v0i0.18148

20. Khalili Mahalleh, J., & Roshdi, M.O.H.S.E.N. (2008). Effect of foliar application of micro nutrients on quantitative and qualitative characteristics of 704 silage corn in Khoy. *Seed and Plant Journal*, *24*(2), 281-293. https://doi.org/10.22092/spij.2017.110804
21. Khorasaninejad, S., Sadeghi, M., & Ebrahimi, P. (2019). The effect of irrigation intervals on growth, physiological and biochemical indices of coneflower (*Echinaceae purpurea* (L.) Monch) under humic acid foliar application. *Journal of Crop Production*, *12*(3), 101-120. https://doi.org/10.22069/ejcp.2019.16177.2205
22. Malakouti M.J., & Tehrani, M.M. (1999). *The role of micronutrients in increasing yield and improving the quality of agricultural products, micro elements with macro impact*, Tarbiat Modares University Publications. 328 p. (In Persian)
23. Malakouti, M. (2000). *The role of micronutrients in increasing agricultural production in Iran*. Technical publication of agricultural education, 70, 123-144.
24. Mazaheri, D., & Hoseini, N. (2002). *Fundamentals of general agriculture*. University of Tehran Press. 426 p. (In Persian)
25. Miransari, H., Mehrafarin A., & Naghdibadi, H. (2015). Morphophysiological and phytochemical responses of *Anethum graveolens* L. to foliar application of ferrous sulfate and zinc sulfate. *Journal of Medicinal Plants*, 14(2), 15-30. https://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2015.14.54.2.5
26. Mostafavi, A. (2009). *Medicinal plants in addition to traditional Azerbaijani medicine*, First Edition. Tehran, University Jahad Publications, Tehran Branch. 208 p.
27. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, *34*(11), 1527-1536. https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00174-8
28. Narimani, H., & SHARIFI, R. (2020). Effect of foliar and soil application of zinc on photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence and grain yield of wheat under soil salinity. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, *10*(2), 89-105. https://doi.org/10.22069/ejsms.2020.16140.1861
29. Omidbaigi, R. (2005). *Production and Processing of Medicinal Plant* (Vol. 2). Beh Nashr Publications. 442 p. (In Persian)
30. Pande, P., Anwar, M., Chand, S., Yadav, V. K., & Patra, D.D. (2007). Optimal level of iron and zinc in relation to its influence on herb yield and production of essential oil in menthol mint. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *38*(5-6), 561-578. https://doi.org/10.1080/00103620701215627
31. Rajpar, I., Bhatti, M.B., Zia-ul-Hassan, A.N., & Tunio, S.D. (2011). Humic acid improves growth, yield and oil content of *Brassica compestris* L. *Pakistan Journal of Agriculture, Agricultural Engineering and Veterinary Sciences*, *27*(2), 125-133.
32. Rath, S., Singh, R.L., Singh, B., & Singh, D.B. (1980). Effect of boron and zinc sprays on physio-chemical composition of mango fruits. *Punjab Horticultural Journal*, *20*, 33-35.
33. Ravi, S., & Channal, H.T. (2010). Effect of sulphur, zinc and iron on growth, yield and nutrient uptake by safflower. *Asian Journal of Soil Science*, *5*(1), 178-181.
34. Rostmi, Q., Moqadam, M., Saeedi pouya, E., & Azhadaniyan, L. (2019). Effect of humic acid foliar application on some morphophysiological and biochemical properties (*Mentha spicata* L.) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *12*(1), 95-110. https://doi.org/10.22077/escs.2018.1296.1264
35. Said- Al Ahl, H.A.H., & Omer, E.A. (2009). Effect of spraying with zinc and / or iron on growth and chemical composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) harvested at three stages of development. *Journal of Medicinal Food Plants*, *1*(2), 30-46.
36. Salehi, B., Bagherzadeh, A., & Ghasemi, M. (2010). Impact of humic acid on growth properties and yield components of three tomato varieties (*Lycopersicon esculentum* L.). *Journal of Agroecology*, *2*(4), 640-647. https://doi.org/10.22067/jag.v2i4.8802
37. Salman, S.R., Abou-Hussein, S.D., Abdel-Mawgoud, A.M.R., & El-Nemr, M.A.(2005). Fruit yield and quality of watermelon as affected by hybrids and humic acid application. *Journal of Applied Sciences Research*, *1*(1), 51-58.
38. Sanchooli, N. (2007). *Investigation of the effect of ratios of animal manure and chemicals and their mixture on soil properties, Yield and Yield Components of Maize Single Cross 714*. Master Thesis in Agriculture, Faculty of Agriculture, Zabol University.
39. Sarkar, D., Mandal, B., & Kundu, M.C. (2007). Increasing use efficiency of boron fertilisers by rescheduling the time and methods of application for crops in India. *Plant and Soil*, *301*, 77-85.
40. Sharif, M., Khattak, R.A., & Sarir, M.S. (2002). Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *33*(19-20), 3567-3580. https://doi.org/10.1081/CSS-120015906
41. Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, *28*(1), 49-55. https://doi.org/10.5344/ajev.1977.28.1.49

42. Song, C.Z., Liu, M.Y., Meng, J.F., Chi, M., Xi, Z.M., & Zhang, Z.W. (2015). Promoting effect of foliage sprayed zinc sulfate on accumulation of sugar and phenolics in berries of *Vitis vinifera* cv. Merlot growing on zinc deficient soil. *Molecules*, *20*(2), 2536-2554. https://doi.org/10.3390/molecules20022536
43. Tadayyon, A., & Beheshti, S. (2016). Effect of foliar applications of humic acid, iron and zinc on some characteristics of negro (*Guizotia abyssinica* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*, *10*(38 (2)), 283-296.
44. Tripathi, L., & Tripathi, J.N. (2003). Role of biotechnology in medicinal plants. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *2*(2), 243-253. https://doi.org/10.4314/tjpr.v2i2.14607
45. Ulukan, H.A.K.A.N. (2008). Effect of soil applied humic acid at different sowing times on some yield components in wheat (*Triticum* spp.) hybrids. *International Journal of Botany 4*(2), 164-175.
46. Vinod, K., Awasthi, G., & Chauchan, P.K. (2012). Cu and Zn tolerance and responses of the biochemical and physiochemical system of wheat. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, *8*(3), 203-213.
47. Viti, R., Bartolini, S., & Vitagliano, C. (1989). Growth regulators on pollen germination in olive. *Journal of Acta Horticulture, 286*, 227-230. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1990.286.47
48. Wake, W., & Eric, B. (2008). *The most important medicinal plants in the world*. Translated by Mehdi Safaei Khoram, Sasan Jafarnia and Sara Khosroshahi. Mashhad: Iran Green Agricultural Education Complex. 442 p.
49. Wang, H., & Jin, J.Y. (2005). Photosynthetic rate, chlorophyll fluorescence parameters, and lipid peroxidation of maize leaves as affected by zinc deficiency. *Photosynthetica*, *43*, 591-596. https://doi.org/10.1007/s11099-005-0092-0